

# Statut épidémiologique de l'*East Coast fever* dans deux troupeaux de bovins issus de systèmes d'élevage distincts au Nord-Kivu, République démocratique du Congo

KALUME M.K.<sup>1,5</sup>, SAEGERMAN C.<sup>2</sup>, MARCOTTY T.<sup>3,4</sup>, DUCHATEL J.-P.<sup>5</sup>, LOSSON B.<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Faculté de Médecine vétérinaire, Université catholique du Graben, B.P. 29, Butembo, Province du Nord-Kivu, République démocratique du Congo ;

<sup>2</sup> Unité de Recherche en Epidémiologie et Analyse de Risques appliquées aux Sciences vétérinaires (UREAR), Département des Maladies infectieuses et parasitaires, Faculté de Médecine vétérinaire, Université de Liège, 20, Boulevard de Colonster, Bâtiment B43, 4000 Liège, Belgique ;

<sup>3</sup> Département de Santé animale, Institut de Médecine tropicale (IMT), 155, 2000 Anvers, Belgique ;

<sup>4</sup> Department of Veterinary Tropical Diseases, Faculty of Veterinary Science, University of Pretoria, Onderstepoort 0110, South Africa;

<sup>5</sup> Unité de Parasitologie et Maladies parasitaires, Département des Maladies infectieuses et parasitaires, Faculté de Médecine vétérinaire, Université de Liège, 20, Boulevard de Colonster, Bâtiment B43, 4000 Liège, Belgique.

**Correspondance** : Professeur Bertrand LOSSON, Tél. : +32(0)4/366.40.90 ; Email : blossom@ulg.ac.be

**RÉSUMÉ** : L'objectif de cette étude était de déterminer l'état épidémiologique de l'*East Coast fever* (ECF) au Nord-Kivu via un suivi (d'octobre 2009 à septembre 2010) des deux cohortes, la première était de type traditionnel avec des bovins indigènes et la seconde comprenait des bovins croisés élevés en mode extensif. Au cours de l'étude, la moyenne des séropositivités mensuelles à *Theileria parva* était très élevée (> 70 %) et ceci pouvait suggérer un état d'enzootie stable dans les deux cohortes. Cependant, l'incidence moyenne mensuelle des cas cliniques de l'ECF était très faible dans le troupeau des bovins indigènes (0 % ; IC95 % = 0-13 %), ce qui suggère un état d'enzootie stable. Par contre, le troupeau de bovins croisés semble se trouver dans un état d'instabilité enzootique puisque l'incidence moyenne mensuelle de l'ECF était très élevée (70 % ; IC95 % = 47-86 %). Dans cette cohorte, l'âge médian à la primo-infection était d'environ 6 mois et les périodes de séroconversion à *T. parva* coïncidaient avec les pics d'activité des adultes de *Rhipicephalus appendiculatus*. L'état d'enzootie stable n'exige que très peu de contrôle de l'ECF, mais le traitement des cas cliniques et l'immunisation des animaux s'avèrent indispensables en situation d'enzootie instable.

## 1. INTRODUCTION

La Province du Nord-Kivu est située à l'Est de la République Démocratique du Congo et ses caractéristiques physiques de base ont été précédemment décrites (Kasay, 1988). Brièvement, trois zones agro-écologiques sont identifiées dans la région : les zones de basse altitude (< 1000 m), de moyenne (1000-1850 m) et de haute altitude (> 1850 m). La majorité des troupeaux de bovins sont élevés dans un système extensif caractérisé par des pâtures artificielles de grandes étendues (plus de 20 ha/troupeau), avec plus de 15 bovins par troupeau (Mararo, 2001). Certains troupeaux de bovins ayant des effectifs réduits

(< 15 têtes) sont élevés dans un système traditionnel (au piquet et sur parcours libre) dans des jachères, sous les bois et broussailles. Parmi les principales maladies transmises par les tiques chez les bovins du Nord-Kivu, la theilériose à *Theileria parva* ou *East Coast fever* (ECF) est considérée comme la plus importante en termes d'incidence clinique et de mortalité d'animaux, particulièrement chez les bovins croisés et les animaux importés (Kalume *et al.*, 2009). L'épidémiologie de l'ECF résulte généralement de l'action de plusieurs facteurs de nature climatique, environnementale et zooteknique (Norval *et al.*, 1992 ; Gachohi *et al.*, 2011). L'abondance des tiques et l'incidence de l'ECF peuvent

varier en fonction des zones agro-écologiques et des systèmes d'élevage pratiqués (Deem *et al.*, 1993 ; Gitau *et al.*, 2000). De plus fortes prévalences des tiques et d'infection par *T. parva* chez les bovins en élevage traditionnel par rapport au système extensif et en stabulation ont été rapportées dans des zones endémiques pour l'ECF en Afrique orientale, comme au Kenya (Gitau *et al.*, 1997 ; 1999 ; Okuthe et Buyu, 2006) et en Ouganda (Rubaire-Akiiki *et al.*, 2004 ; 2006).

Le but de la présente étude était d'estimer des indicateurs de l'ECF tels que la prévalence sérologique, l'abondance des tiques, l'incidence des cas cliniques et l'âge au premier contact

avec *T. parva* dans deux troupeaux des bovins issus des systèmes d'élevage différents dans la province du Nord-Kivu. La combinaison de ces informations a permis de caractériser des situations épidémiologiques de l'ECF dans cette Province et leurs implications en termes de stratégies de contrôle de la maladie.

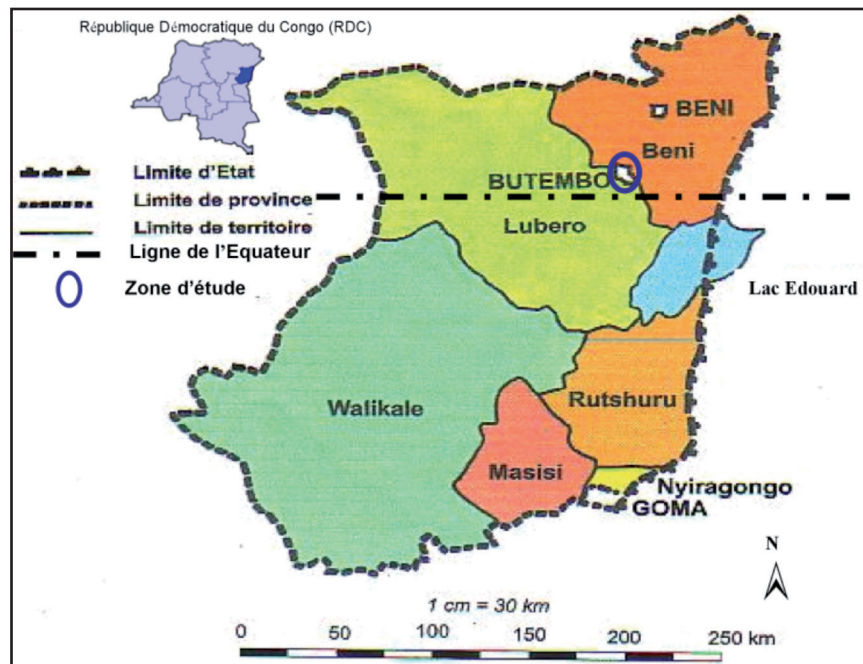
## 2. MATERIEL ET METHODES

### 2. 1. Milieu d'étude et sélection des troupeaux

L'étude a été conduite d'octobre 2009 à septembre 2010 dans une zone reconnue comme à risque de l'ECF sur base des résultats d'une enquête réalisée à l'aide de questionnaires adressés à des vétérinaires du Nord-Kivu (Kalume *et al.*, 2009). La sélection des troupeaux a été réalisée sur base de certains critères, incluant : (i) l'accessibilité des troupeaux par la route et leur localisation en dehors des zones de guerre, (ii) la pratique des systèmes d'élevage différents, (iii) un effectif de plus de 20 bovins des deux sexes et de toute catégorie d'âge, avec possibilité d'obtenir des naissances durant la période d'étude. Les veaux nouveau-nés sont considérés comme très sensibles à l'ECF puisqu'ils n'ont jamais été en contact avec *T. parva* et les anticorps d'origine colostrale sont peu efficaces contre l'infection (Morzaria *et al.*, 2000). En outre, (iv) la participation de l'éleveur à l'étude était également un critère puisque ce dernier s'engageait à ne pas traiter préventivement les animaux contre les tiques durant la période d'étude, et à ne pas utiliser de chimio-prophylaxie contre l'ECF. Seuls les cas cliniques d'ECF survenus au cours de la période d'étude étaient traités par la Buparvaquone. Ainsi, deux troupeaux de bovins ont été recrutés pour l'étude dans la ville de Butembo (figure 1) :

- un troupeau de 34 bovins (première cohorte) de l'Université catholique du Graben (UCG), situé au sud-ouest de la ville, à 1827 m d'altitude (0°07' de latitude nord et 29°15' de longitude est). Ce troupeau, de type extensif, était constitué de bovins issus de croisements réalisés par insémination artificielle de vaches indigènes (Zébu et Ankole) par des semences issues des races Frisonne et Brune des Alpes. Les veaux sont maintenus dans une étable jusqu'à l'âge d'environ 4 à 5 mois et ne sortent que pour têter ou pendant la traite. Le

**Figure 1:** carte administrative de la Province du Nord-Kivu (RD Congo) avec localisation de la zone d'étude.



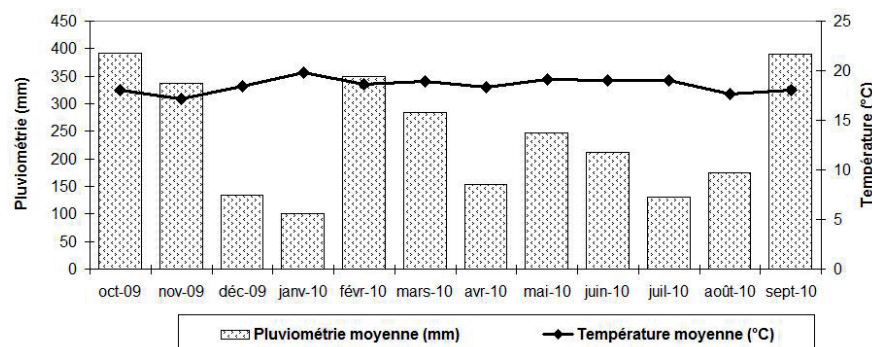
contrôle des tiques et des maladies y afférentes est appliqué. Le traitement contre les tiques (solution aqueuse d'amitraz) se faisait par aspersion selon un rythme hebdomadaire et

- un troupeau de 38 bovins indigènes (Zébus et Ankoles) (seconde cohorte) qui réunissait 4 unités de 5 à 9 têtes utilisant un système d'élevage traditionnel dans la localité de Misebere, au sud-est de la ville de Butembo, à 1916 m d'altitude (0°05' de latitude nord et 29°19' de longitude est). Après la traite dans la matinée, les veaux sont autorisés à têter et le troupeau est conduit sur de longues distances pour pâture sur parcours libre ou au piquet

sous les bois, dans des jachères et broussailles. Les veaux nouveau-nés sont, quant à eux, maintenus à proximité de la maison pendant la journée. Ils commencent à accompagner le troupeau à environ 2 à 3 mois d'âge. Les animaux de ce second troupeau ne bénéficient d'aucune mesure de contrôle des tiques et des maladies transmises par les tiques.

Durant la période d'étude, les données météorologiques couvrant le milieu d'étude ont été recueillies à la station la plus proche. Des moyennes mensuelles de la température (18,5°C) et de la pluviométrie (242,3 mm) ont été enregistrées (figure 2).

**Figure 2 :** données météorologiques, pour la période étudiée, recueillies à la station de l'Institut technique agricole et vétérinaire (ITAV) de Butembo (Province du Nord-Kivu, RD Congo).



## 2.2. Suivi des cohortes

Le traitement contre les tiques des animaux incluent dans la cohorte de l'UCG a été arrêté trois semaines avant le début des différents prélèvements. Les visites des deux cohortes d'animaux ont été réalisées mensuellement. Cependant, des visites fréquentes étaient organisées avant les dates prévues lorsqu'une atteinte clinique était suspectée par l'éleveur ou lors de traitements des cas cliniques. Le nombre moyen de tiques *Rhipicephalus appendiculatus* présentes sur les mêmes animaux recrutés dès le début de l'étude était estimé et les animaux subissaient un test sérologique. Un examen clinique de routine était effectué sur chaque animal par palpation des ganglions parotidiens et préscapulaires (Lawrence *et al.*, 1994) et d'autres signes cliniques d'ECF tels que l'élévation de la température (> 39,5°C), le larmoiement et le jetage ont été recherchés.

### 2.2.1. Identification des tiques et examen sérologique

Les tiques ont été récoltées par arrachage manuel au niveau de 6 régions anatomiques (oreilles, face, encolure-fanon, région ano-génitale, abdomen-pattes et queue). Elles ont ensuite été identifiées selon la clé morphologique proposée par Walker et collaborateurs (2003) et regroupées par espèce et stade évolutif. Le sang a été prélevé au niveau de la veine coccygienne des animaux et adsorbé sur des disques de papier Whatmann n°4 (22 mm de diamètre) qui, après séchage à l'air libre, ont été conservés à -70°C dans des sachets plastiques hermétiques contenant un dessiccant. Le test d'immunofluorescence indirecte (IFAT) a été utilisé selon la méthode décrite par Burridge et Kimber (1972) pour la détection d'anticorps dirigés contre *T. parva*. L'antigène des schizontes de *T. parva* a été produit comme décrit par Goddeeris et Morrison (1988). Les titres d'anticorps supérieurs à 1:160 étaient considérés comme positifs.

### 2.2.2. Diagnostic des cas cliniques, sub-cliniques et mortalité des animaux

Les cas cliniques d'ECF (suspectés ou confirmés) étaient diagnostiqués lorsque les symptômes d'appel de la maladie (gonflements des ganglions parotidiens et préscapulaires) étaient confirmés par la présence des schizontes de *T. parva* sur des frottis prépa-

rés à partir d'une ponction de lymphoganglionnaire, avec ou sans sérologie positive. Les cas d'ECF sub-cliniques étaient établis sur base de la séroconversion à *T. parva* définie comme le passage d'un état de séronégativité à un état de séroposativité, excepté chez les veaux qui possédaient des anticorps d'origine maternelle et étaient par conséquent sérologiquement positifs. La mortalité était définie comme des animaux morts après une atteinte clinique d'ECF. Il s'agissait des cas cliniques non traités, diagnostiqués tardivement après un appel tardif par l'éleveur. Cependant, il n'était pas possible d'estimer la létalité exacte de la maladie puisque le traitement des cas cliniques lié à un diagnostic précoce se traduisait par une récupération des animaux affectés.

### 2.2.3. Détermination de la séroconversion chez les veaux et de l'âge à la primo-infection

La première visite des veaux nouveaux était considérée comme le début du premier intervalle d'exposition au risque d'infection par *T. parva*, tandis que la seconde visite et les suivantes étaient considérées comme des intervalles permettant d'évaluer la diminution des taux d'anticorps d'origine maternelle. Un veau était jugé avoir présenté une séroconversion dans l'une des circonstances suivantes : (i) il était initialement séronégatif et devenait séropositif pour au moins une visite, (ii) il avait des anticorps maternels (état de séroposativité) qui ont diminués à un état de séronégativité et par la suite il devenait séropositif pour au moins une visite, ou (iii) il avait des anticorps maternels qui persistaient jusqu'à l'apparition des symptômes de l'ECF.

Puisque l'état de séroposativité persistait chez la plupart des veaux au cours de leur observation, le moment d'enregistrement d'une atteinte clinique d'ECF permettait d'estimer la durée nécessaire de séroconversion vis-à-vis de *T. parva*. L'âge au premier contact était alors estimé, mais un intervalle de 30 jours (15 jours pour la séroconversion et 15 jours en moyenne avant la visite) était soustrait en raison du délai entre la réponse clinique et l'observation d'une séroconversion.

### 2.2.4. Statut des animaux face à l'infection par *Theileria parva*

En fonction de leur sensibilité à l'infection par *T. parva*, les animaux

étaient repartis en trois groupes, incluant : (i) les animaux qui développaient les signes cliniques de l'ECF (infections cliniques), (ii) ceux qui étaient immuns (infections chroniques asymptomatiques) et (iii) ceux qui ne manifestaient pas l'ECF lors de leur premier contact avec *T. parva* (infections primaires asymptomatiques).

## 2.3. Analyses statistiques

Au cours d'une période donnée, l'incidence de l'ECF était déterminée par le rapport du nombre des cas cliniques recensés et le nombre d'animaux exposés au risque de l'infection (animaux non traités contre les tiques). Les incidences cumulatives des cas cliniques de l'ECF et l'analyse de survie des animaux en fonction du temps au cours des événements (cas cliniques de l'ECF et âge au premier contact avec *T. parva*) sont représentées par des courbes de Kaplan et Meier (1958). Ces courbes ont été générées par la procédure de graphe XY (Scatter) utilisant le logiciel Excel® et le test exact de Fisher était utilisé pour vérifier l'hypothèse de risque proportionnel. Le risque mensuel de séroconversion défini comme la proportion d'animaux susceptibles d'être en contact avec *T. parva* a été analysé en fonction du nombre moyen mensuel de *R. appendiculatus* collectée par animal, ce qui permettait d'évaluer l'intensité de transmission de *T. parva*. L'abondance moyenne des tiques a été calculée par le rapport entre le nombre des tiques collectées et le nombre d'animaux exposés au risque.

## 3. RESULTATS

### 3.1. Résultat global

Les données concernant les nombres d'animaux recrutés, des perdus de vue et séropositifs ainsi que des cas cliniques de l'ECF (suspectés et confirmés) lors des visites mensuelles de deux cohortes sont répertoriés dans le tableau I. L'étude était conduite sur un nombre moyen mensuel de 41 bovins des deux sexes dont 20 bovins (14 adultes et 6 veaux) à l'UCG et 21 (19 adultes et 2 veaux) à Misebere. Les variations du nombre mensuel de bovins recrutés dans chaque cohorte étaient dues à des naissances et des perdus de vue (mortalités, abattages, transfert et insuffisance de contention). Les cas de perte de vue n'ont pas été remplacés, mais ceux liés à



l'insuffisance de contention à l'UCG et au transfert d'un mâle pour des saillies à Misebere ont été réintroduits dans les cohortes respectives au cours des visites suivantes. Au début de l'étude, aucun veau n'était présent à l'UCG et des naissances ont été enregistrées à partir du deuxième mois de la visite du troupeau.

### 3.2. Séroprévalence à *Theileria parva* et incidence de l'*East Coast fever*

La moyenne des taux mensuels de séropositivité à *T. parva* était de 95 % (IC95 % = 82 - 99 %) et elle n'était pas significativement différente entre les deux cohortes ( $P > 0,05$ ). Cependant, au cours de l'étude, l'incidence de l'ECF était très faible à Misebere tant chez les animaux adultes (0 % ; IC95 % = 0-15 %) que chez les

veaux (0 % ; IC95 % = 0-63 %). A l'UCG, l'incidence de l'ECF était de 71 % (IC95 % = 44-89 %) et 57 % (IC95 % = 23-86 %) respectivement chez les bovins adultes et les veaux. Dans ce troupeau, une tendance à l'augmentation des cas cliniques de l'ECF était observée dans les deux catégories d'animaux, avec une augmentation plus rapide de l'incidence chez les veaux à partir du cinquième mois d'âge (figure 3). Il était difficile d'obtenir une estimation précise de la mortalité liée à l'infection à *T. parva* puisque les cas cliniques étaient traités. Cependant, la courbe de survie de Kaplan-Meier (figure 4) a révélé que le taux de survie des animaux adultes contre l'ECF était maximal à Misebere (aucun cas clinique observé) et diminuait à l'UCG chez les animaux non-immunisés (cas cliniques d'ECF non traités), avec une médiane d'environ 9 mois d'exposition au risque de la ma-

ladie. Des mortalités sont survenues chez 3 bovins adultes non traités parmi les 10 cas cliniques (30 %). Durant la période d'étude, aucun signe particulier aux autres maladies transmises par les tiques comme l'anaplasmose et la babésiose bovines n'a pas été observé.

### 3.3. Age à la primo-infection

L'âge au premier contact avec l'agent pathogène n'a pas été déterminé à Misebere en raison de l'absence des cas cliniques de l'ECF parmi les 3 veaux suivis. À l'UCG, la courbe de Kaplan-Meier de l'âge au premier contact des 7 veaux suivis (ou courbe de survie contre l'ECF) répertoriée dans la figure 5 a révélé une tendance à l'augmentation des cas cliniques d'ECF en fonction de l'âge, avec une médiane autour de l'âge de 7 mois. En considérant le délai minimum d'environ 30 jours entre la réponse clinique

**Tableau I** : composition des deux troupeaux (celui de l'Université catholique du Graben (UCG) et celui de Misebere) en périphérie de la ville de Butembo, province du Nord-Kivu (RD Congo), suivis lors de l'expérimentation (octobre 2009 à septembre 2010) : nombre d'animaux à risque, nombre d'animaux perdus de vue au cours de l'expérience, nombre d'animaux séropositifs vis-à-vis de *Theileria parva* et incidence de l'*East Coast fever* (ECF).

Mois	Système extensif (troupeau de l'UCG)				Système traditionnel (troupeau de Misebere)			
	Bovins à risque (adultes/veaux)	Perdus de vue (adultes/veaux)	Bovins séropositifs (adultes/veaux)	ECF (adultes/veaux)	Bovins à risque (adultes/veaux)	Perdus de vue (adultes/veaux)	Bovins séropositifs (adultes/veaux)	ECF (adultes/veaux)
Oct.-09	17 / -	0 / -	12 / -	0 / -	19 / 1	0 / 0	19 / 1	0 / 0
Nov.-09	17 / 5	0 / 0	16 / 5	0 / 0	19 / 1	0 / 0	18 / 1	0 / 0
Déc.-09	17 / 7	0 / 0	17 / 6	3 / 0	19 / 1	0 / 0	18 / 1	0 / 0
Janv.-10	14 / 7	3 / 0	13 / 6	0 / 0	18 / 1	1# / 0	18 / 1	0 / 0
Fév.-10	13 / 7	1# / 0	13 / 6	3 / 0	19 / 1	0 / 0	18 / 1	0 / 0
Mars.-10	14 / 7	0 / 0	10 / 7	0 / 1	19 / 1	0 / 0	19 / 1	0 / 0
Avril-10	14 / 6	0 / 1	14 / 6	0 / 1	19 / 1	0 / 0	19 / 1	0 / 0
Mai-10	14 / 6	0 / 0	14 / 6	0 / 2	19 / 3	0 / 0	18 / 3	0 / 0
Juin-10	14 / 6	0 / 0	14 / 6	2 / 0	19 / 3	0 / 0	19 / 3	0 / 0
Juillet-10	14 / 6	0 / 0	13 / 6	0 / 0	19 / 3	0 / 0	18 / 3	0 / 0
Août-10	14 / 6	0 / 0	11 / 6	0 / 0	19 / 3	0 / 0	19 / 3	0 / 0
Sept.-10	14 / 6	0 / 0	14 / 6	2 / 0	18 / 3	1# / 0	18 / 3	0 / 0
Moyenne	14/6		13/6	0,8/0,4	19/2		18/2	0/0

\* nombre d'animaux exposés au risque de *East Coast fever* (ECF) au cours de la période (y compris des naissances) après soustraction des perdus de vue. À l'Université catholique du Graben (UCG), les naissances ont été enregistrées à partir de la 2<sup>e</sup> visite du troupeau.

§ Animaux sortant de la cohorte suite à des mortalités, abattages, transferts et insuffisance de contention.

# Perte de vue à l'UCG par insuffisance de contention ou à Misebere par transfert d'un mâle pour des saillies. Ces animaux ont été réintroduits dans les cohortes respectives au cours des visites suivantes.

† Cas cliniques de l'ECF (suspectés et confirmés) chez les animaux à risque et présentant une séroconversion (cas cliniques de l'ECF réagissant positivement au test de diagnostic sérologique utilisé).

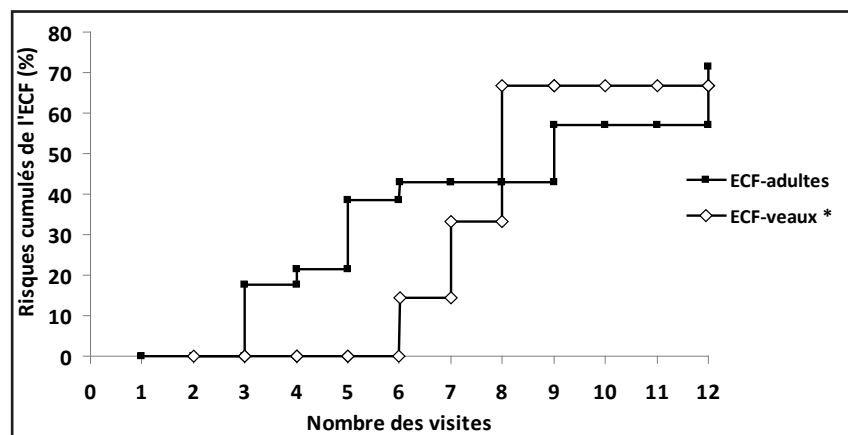
et l'observation d'une séroconversion, l'âge médian au premier contact avec *T. parva* a été estimé à environ 6 mois. Bien que la mortalité des veaux n'ait pas été évaluée dans le cadre de cette étude en raison des traitements des cas cliniques, le veau non traité parmi les 4 cas cliniques enregistrés (25 %) est mort. Les antécédents cliniques de l'ECF (réactions cliniques très sévères) ont montré que parmi les 3 veaux traités et guéris, 2 veaux (67 %) seraient morts en l'absence d'un traitement. Dans cette hypothèse, le taux de mortalité aurait atteint 75 %.

### 3.4. Abondance des tiques et probabilité de séroconversion à *Theileria parva*

Les données concernant les charges parasitaires et les espèces des tiques récoltées dans les deux cohortes sont présentées dans le tableau II. Parmi les 35.432 tiques récoltées sur les bovins au cours de l'étude, *Rhipicephalus appendiculatus* était l'espèce la plus fréquente (85,228 %) suivie par *R. decoloratus* (14,769 %) et par *Amblyomma variegatum* (0,003 %). La tique *R. appendiculatus*, principal vecteur de *T. parva* était présente sur les bovins durant toute la durée de l'étude (figure 6). Sa charge moyenne mensuelle par animal était significativement plus élevée à Misebere (105 tiques) qu'à l'UCG (16 tiques) ( $P < 0,05$ ) et la proportion des tiques adultes (97 %) dans les deux cohortes réunies était plus élevée par rapport aux nymphes (3 %). Aucune larve de cette espèce n'a été récoltée sur les animaux.

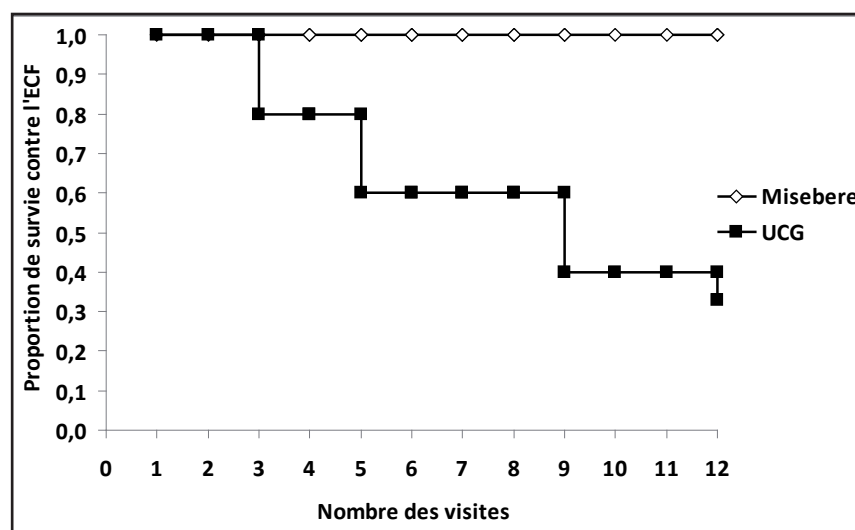
A l'UCG où des cas cliniques d'ECF étaient fréquents, la courbe épidémique de la maladie a révélé une assez bonne concordance entre les périodes de séroconversion à *T. parva* et les charges parasitaires les plus élevées pour les adultes de *R. appendiculatus* (figure 7). Deux périodes successives

**Figure 3** : risques cumulés de l'*East Coast fever* (ECF) chez les animaux du troupeau de l'Université catholique du Graben pendant la période de l'étude (octobre 2009 à septembre 2010).



\* Le suivi des veaux nouveau-nés a commencé à partir de la deuxième visite du troupeau.

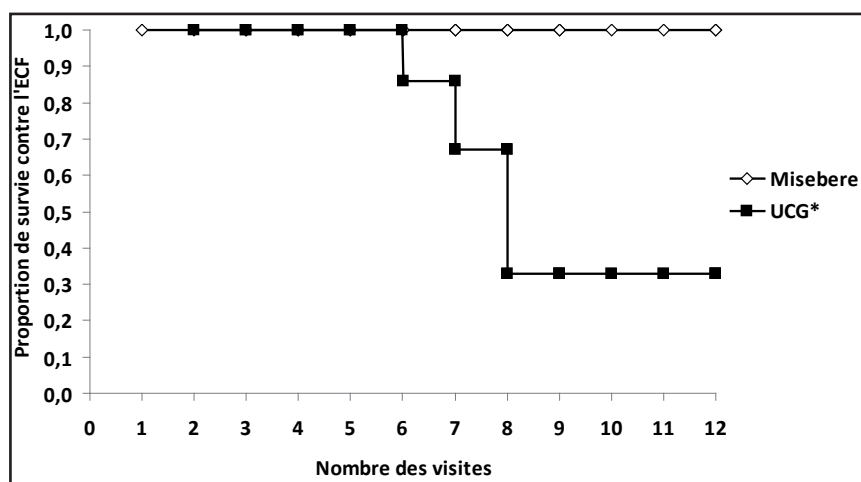
**Figure 4** : courbe de survie vis-à-vis de l'*East Coast fever* (ECF) des bovins adultes dans les deux cohortes (celle de l'Université catholique du Graben (UCG) et celle de Misebere) pendant la période de l'étude (octobre 2009 à septembre 2010).



**Tableau II** : nombre de tiques par espèces considérées (*Rhipicephalus appendiculatus*, *Rhipicephalus decoloratus* et *Amblyomma variegatum*) récoltées sur les bovins en fonction du système d'élevage étudié (celui de l'Université catholique du Graben (UCG) et celui de Misebere), situés en périphérie de la ville de Butembo, Province du Nord-Kivu (octobre 2009 à septembre 2010).

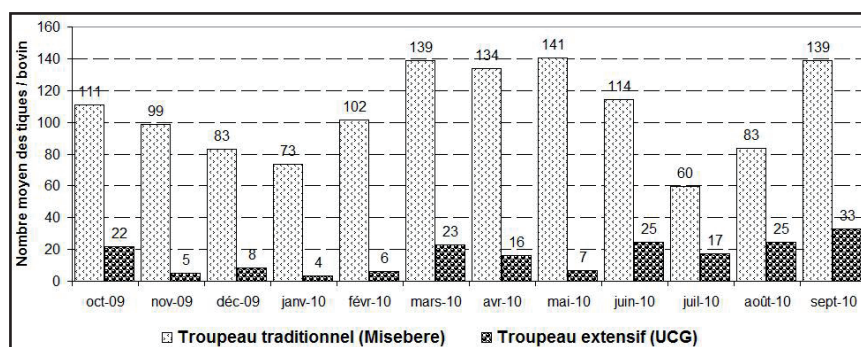
Système d'élevage	nombre de bovins à risque	nombre de tiques collectées	nombre moyen mensuel de tiques/bovin	<i>R. appendiculatus</i>			<i>R. decoloratus</i>				<i>A. variegatum</i>
				mâles	féelles	nymphes	mâles	féelles	nymphes	larves	mâles
Extensif (UCG)	20	4314	18	2608	1105	96	17	151	302	35	0
Traditionnel (Misebere)	21	31118	123	17930	7530	929	148	1845	2482	253	1
Total	41	35432	72	20538	8635	1025	165	1996	2784	288	1

Figure 5 : courbe de survie vis-à-vis de l'*East Coast fever* (ECF) des veaux dans les deux cohortes (celle de l'Université catholique du Graben (UCG) et celle de Misebere) pendant la période de l'étude (octobre 2009 à septembre 2010).



\* À l'Université catholique du Graben, le suivi des veaux nouveau-nés a commencé à partir de la deuxième visite du troupeau.

Figure 6 : évolution du nombre moyen mensuel de tiques *Rhipicephalus appendiculatus* récoltées par animal dans les deux cohortes étudiées (celle de l'Université catholique du Graben (UCG) et celle de Misebere) (octobre 2009 à septembre 2010).



d'intensité croissante de transmission de *T. parva* étaient observées chez les veaux respectivement au cinquième et au septième mois d'âge. Trois périodes épidémiques étaient observées chez les animaux adultes (décembre 2009, juin et septembre 2010) et les deux dernières périodes étaient enregistrées au cours des deuxième et troisième vagues d'activité des stades adultes de *R. appendiculatus*.

#### 4. DISCUSSION ET CONCLUSIONS

Les résultats obtenus dans cette étude ont démontré la nécessité de considérer le système d'élevage et la race des bovins lors de l'estimation des états épidémiologiques de l'ECF. Les indicateurs épidémiologiques de la maladie évalués au cours de l'observation des animaux peuvent être résumés selon les critères utilisés par Marcotty (2003) (tableau III).

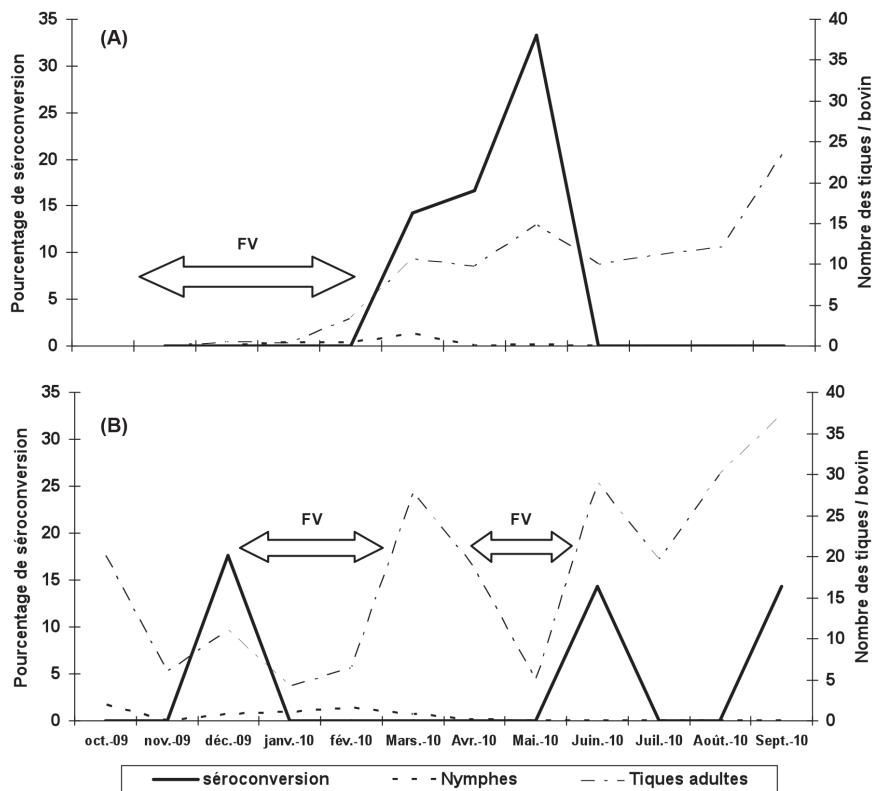
Les séroprévalences à *T. parva* étaient très élevées (> 70 %) et ceci pouvait suggérer un état d'enzootie stable dans les deux cohortes comme indiqué par Norval et collaborateurs (1992). Cependant, à elle seule la séroprévalence n'est pas un indicateur suffisant et fiable permettant d'évaluer le statut épidémiologique vis-à-vis de l'ECF (Perry, 1996). D'autres indicateurs comme l'incidence des cas cliniques et l'abondance de *R. appendiculatus* ainsi que la sensibilité des veaux lors du premier contact avec l'infection ont fourni plus d'informations précises sur l'état épidémiologique de la maladie dans chacune des deux cohortes. Les données portant sur l'incidence moyenne mensuelle des cas cliniques

**Tableau III** : évaluation de l'état épidémiologique de l'*East Coast fever* (ECF) en fonction du système d'élevage (extensif : celui de l'Université catholique du Graben (UCG) et traditionnel : celui de Misebere).

Système d'élevage	prévalence sérologique†	incidence de l'ECF ‡	morbidity au premier contact‡	abondance mensuelle de <i>R. appendiculatus</i> /animal			état épidémiologique
				veaux	adultes	moyenne	
Extensif (UCG)	élevée (95 %) IC95 % = 72-99 %	élevée (70 %) IC95 % = 47-86 %	très élevée (à 6 mois d'âge)	9 <sup>a</sup>	19 <sup>b</sup>	16	instabilité enzootique
Traditionnel (Misebere)	élevée (95 %) IC95 % = 73-99 %	très faible (0 %) IC95 % = 0-13 %	infection subclinique des veaux	50 <sup>a</sup>	111 <sup>b</sup>	105	enzootie stable

Les indicateurs épidémiologiques utilisés sont ceux qui ont été mis en évidence par Marcotty (2003) : (i) prévalence sérologique = nombre d'animaux séropositifs parmi les animaux exposés au risque d'infection à *Theileria parva* ; (ii) incidence à l'ECF = cas cliniques de l'ECF (suspectés et confirmés) chez les animaux exposés au risque et présentant une séroconversion (cas cliniques d'ECF au premier contact et séropositifs) ; (iii) morbidité au premier contact = proportion d'animaux atteints cliniquement ; (iv) nombre de *Rhipicephalus appendiculatus* récoltées par mois et par animal ; (v) état épidémiologique

Les valeurs avec des lettres <sup>a</sup> et <sup>b</sup> sont significativement différentes au sein de la même cohorte (P < 0,05).



**Figure 7 :** probabilité mensuelle de séroconversion vis-à-vis de *Theileria parva* des animaux du troupeau de l'Université catholique du Graben (UCG) (chez les veaux (A) et les animaux adultes (B)) en fonction du nombre moyen de *Rhipicephalus appendiculatus* récoltés par animal et estimation de la fenêtre de vaccination (FV).

de l'ECF ont suggéré l'existence d'un état d'instabilité enzootique. La sensibilité très élevée des animaux adultes s'explique par la rupture du contrôle des tiques (une condition primordiale assumée dans cette étude) ce qui a permis une transmission élevée de l'infection à *T. parva* chez des animaux dépourvus d'immunité contre l'ECF (Muhanguzi *et al.*, 2010 ; Phiri *et al.*, 2010). La situation peut aussi s'expliquer par la sensibilité très élevée des animaux croisés à l'infection à *T. parva* tel que cela a été décrit dans des études antérieures (Ndungu *et al.*, 2005 ; Oura *et al.*, 2005 ; Muhanguzi *et al.*, 2010).

À Misebere par contre, la résistance naturelle contre l'ECF des animaux de toute catégorie d'âge se manifestait par une incidence moyenne mensuelle très faible, suggérant l'existence d'un état d'enzootie stable au sein de ce troupeau. Une situation similaire a été rapportée dans la région de Trans Mara au Kenya (Moll *et al.*, 1986), caractérisée par de très faibles taux de morbidité et de mortalité et une

résistance élevée des veaux vis-à-vis de l'infection à *T. parva* alors que les conditions écologiques (abondance et bonne distribution des pluies) sont très favorables à l'activité de *R. appendiculatus*.

Ces différences au plan épidémiologique de l'ECF entre les deux cohortes peuvent s'expliquer par des différences concernant l'âge au premier contact. La résistance très élevée des veaux contre l'ECF à Misebere semble être due au fait qu'ils accompagnent le troupeau sur la pâture où ils sont infectés dans les 2 à 3 premiers mois de leur vie et considérant le fait que les veaux sont moins infestés par les tiques et que l'inoculum est probablement très faible puisqu'il provient des animaux adultes infectés subcliniques (Young *et al.*, 1996 ; Swai *et al.*, 2006), les veaux développent une immunité contre l'infection à *T. parva*. Cette situation est favorable à l'établissement d'un état d'enzootie stable au sein de ce troupeau (Moll *et al.*, 1986 ; Norval *et al.*, 1992 ; Perry *et al.*, 1992). La résistance (ou résilience)

naturelle contre l'ECF chez les veaux nés des animaux indigènes (Zébus et Ankoles) n'est pas à négliger non plus. Cette résistance est liée à une pression de sélection exercée sur les populations bovines en Afrique orientale par l'infection à *T. parva* (Barnett, 1963 ; Barnett et Brocklesby, 1966 ; Moll *et al.*, 1986). La situation pourrait probablement devenir instable dans certaines circonstances telles l'infection par une souche de *T. parva* différente de celle qui est à l'origine de l'immunité des animaux et les croisements entre les bovins indigènes étudiés avec des animaux plus sensibles à la maladie. Le faible effectif de veaux suivis nécessite une interprétation prudente. Néanmoins, le fait que 3 veaux nouveau-nés ont été exposés pendant plusieurs mois aux tiques *R. appendiculatus* dans un troupeau endémique d'ECF sans qu'aucun ne manifeste de signes cliniques particuliers confirme un état de stabilité endémique et ce d'autant plus que les animaux de l'UCG, exposés à un nombre beaucoup plus faible de tiques, ont présenté plusieurs cas cliniques avec des mortalités chez certains animaux non traités. Indépendamment de la sensibilité très élevée des animaux croisés à l'infection par *T. parva*, l'augmentation des cas cliniques de l'ECF avec l'âge à l'UCG est due principalement à la restriction de mouvements des veaux sur la pâture du fait qu'ils sont maintenus à l'étable jusqu'à l'âge de 5 mois environ). Cette pratique a comme conséquence le report du premier contact avec l'infection à *T. parva*. Comme la transmission de l'infection est très élevée dans ce troupeau parce que les tiques se nourrissent sur des animaux adultes infectés cliniques (Medley *et al.*, 1993 ; Young *et al.*, 1996), les veaux ont été très affectés. Des situations similaires ont été rapportées au Kenya (Gitau *et al.*, 2000) et en Ouganda (Katunguka-Rwakishaya et Rubaire-Akiiki, 2008 ; Muhanguzi *et al.*, 2010).

La présente étude indique une phénoménologie similaire de l'activité de *R. appendiculatus* dans les deux cohortes. Cette tique était présente sur les animaux durant toutes les saisons, ce qui laisse entrevoir qu'elle ne présente pas de diapause dans la région d'étude (Madder *et al.*, 1999 ; 2002) et par conséquent, la transmission de *T. parva* se fait d'une manière continue (Morel, 2000). La plus forte charge moyenne mensuelle de *R. appendiculatus* à Misebere (105



tiques/bovin) est liée probablement à la pratique de l'élevage traditionnel. Les animaux sont nourris dans des broussailles, des jachères et sous-bois qui hébergent des rongeurs, hôtes des stades immatures de *R. appendiculatus*, bien que les nymphes manifestent un tropisme important pour les ongu-lés (Walker *et al.*, 2003). Cet élevage traditionnel représente donc un facteur de risque épidémiologique important vis-à-vis de l'infection à *T. parva*. En outre, l'utilisation de pâtures libres et communes et l'emprunt de mâles reproducteurs lors des saillies sont généralement associés aux mouvements des animaux d'un troupeau à l'autre ce qui facilite l'infestation des pâtures par des tiques et rendent possible leur fixation sur des animaux provenant de différents troupeaux et donc la transmission de *T. parva*.

À l'UCG, la coïncidence observée entre les pics d'abondance des adultes de *R. appendiculatus* et les périodes de séroconversion à *T. parva* semble confirmer que le rôle des nymphes est très faible dans la dynamique de transmission de l'infection comme ceci a été rapporté dans d'autres études (Ochanda *et al.*, 1996 ; Morel, 2000). L'absence apparente de larves de cette tique s'explique par la difficulté de les observer sur les animaux à cause de leur petite taille. En outre, les larves se nourrissent le plus souvent sur des micro-mammifères. La détermination des taux de portage par *T. parva* par l'application d'une technique de PCR (*Polymerase Chain Reaction*) chez les tiques locales permettrait d'évaluer le niveau exact de transmission de l'infection.

L'un des objectifs de cette étude était de préciser l'implication des états épidémiologiques identifiés sur le contrôle de la maladie. L'enzootie stable du troupeau de Misebere n'exige que très peu de contrôle de l'infection. Cet élevage sur parcours libre offre des conditions très favorables à l'activité des tiques (Gitau *et al.*, 2000 ; Okuthe et Buyu, 2006 ; Gachohi *et al.*, 2011) et, dans ces conditions, le contrôle des populations de tiques doit se limiter à les maintenir sous un seuil acceptable pour éviter certaines complications (lésions mécaniques de grattage, abcès, hématome, etc) (Morel, 2000). À l'UCG, les traitements acaricides semblent efficaces puisqu'un grand nombre d'animaux se sont montrés très sensibles à l'infection lors de la rupture du contrôle des

populations de tiques, ce qui confirme l'état d'instabilité enzootique au sein de ce troupeau (Mugabi *et al.*, 2010 ; Phiri *et al.*, 2010). Il s'agissait d'une situation artificielle induite par la restriction des contacts entre la tique *R. appendiculatus* et les bovins via l'utilisation de produits acaricides à une fréquence élevée (Morel, 2000 ; Phiri *et al.*, 2010). Considérant le fait que l'immunité humorale n'est pas protectrice contre l'ECF (Bruce *et al.*, 1910 ; Morzaria *et al.*, 2000) et que les veaux sont maintenus à l'étable jusqu'à environ 5 mois d'âge, la meilleure méthode de contrôle de l'ECF qui permettrait sans doute l'établissement d'un état artificiel d'enzootie stable au sein de ce troupeau serait l'immunisation des animaux et le traitement des cas cliniques. La figure 7 a révélé que l'immunisation éventuelle des animaux adultes devrait avoir lieu avant les périodes de forte incidence de l'ECF, ce qui correspond aux périodes comprises entre les mois de janvier et février et entre avril et mai. À l'heure actuelle, cette approche semble difficile à mettre en œuvre dans le contexte socio-économique du Nord-Kivu compte tenu de la lourdeur logistique liée au maintien de la chaîne du froid dans un pays où les axes routiers et les moyens de transport sont très déficients.

Bien que l'impact économique de l'ECF n'ait jamais été évalué dans les élevages de bovins du Nord-Kivu, cette étude démontre que l'incidence de la maladie chez des bovins croisés (très sensibles) et les conséquences y afférentes (mortalité d'animaux, coût élevé de contrôle régulier des tiques et traitement des cas cliniques) ne peuvent pas être sous-estimées. Les éleveurs devraient donc être informés des risques inhérents à la restriction de mouvements des veaux sur la pâture durant les premiers mois de leur vie et à l'introduction d'animaux sensibles qui nécessitent d'être protégés d'une façon ou d'une autre. Les résultats de cette étude suggèrent la nécessité d'études en vue d'identifier les différentes souches de *T. parva* présentes dans la région et de déterminer leur virulence, ce qui permettrait une meilleure efficacité de l'immunisation des animaux par infection et traitement proposée comme méthode de contrôle de la maladie. Le coût d'utilisation de cette méthode doit aussi être évalué dans des études à impact zootechnique et socio-économique.

## REMERCIEMENTS

Les auteurs tiennent à remercier la Coopération Technique Belge (CTB) pour le soutien financier lors de la réalisation de ce travail. Nous sommes également très reconnaissants aux éleveurs de la localité de Misebere au Sud-Est de la ville de Butembo et au responsable de la ferme de l'Université catholique du Graben (UCG) pour avoir accepté nos visites régulières au sein de leurs exploitations. Nous remercions aussi l'équipe technique du département de santé animale de l'Institut de Médecine tropicale d'Anvers (IMT), en Belgique, pour nous avoir fourni gracieusement l'antigène de *T. parva* et un sérum témoin positif pour le test sérologique.

## SUMMARY

### Epidemiological status of East Coast fever in two cattle herds derived from different farming systems in North-Kivu Province, Democratic Republic of Congo.

The aim of this study was to assess the epidemiological state of East Coast fever (ECF) in North-Kivu by the follow-up (from October 2009 to September 2010) of two cohorts; the first was the free-range grazing system with indigenous cattle and the second used crossbred cattle raised under a fenced grazing system. During the study, the mean monthly seropositivity to *Theileria parva* was very high (> 70 %) and this could suggest a state of enzootic stability in the two cohorts. However, the monthly ECF clinical incidence in indigenous cattle herd was very low (0%, CI95 % = 0-13 %), which suggested an enzootic stable state. In contrast, the herd of crossbred cattle seems to be in an enzootic unstable state because the monthly ECF clinical incidence was very high (70 %; IC95 % = 47-86 %). In this cohort, the median age at first contact to *T. parva* was about 6 months and the periods of seroconversion to *T. parva* coincided with peaks of adult *R. appendiculatus* activity. The state of enzootic stability requires very little control of the disease, but the treatment of clinical cases and the immunization of animals are essential in the enzootic unstable situation.



## BIBLIOGRAPHIE

- BARNETT S.F. The biological races of bovine *Theileria* and their host-parasite relationship. In : Garnham P.C.C. (Ed.), *Immunity to Protozoa*. Blackwell : Oxford, 1963, 180-195.
- BARNETT S.F., BROCKLESBY D.W. A mild form of East Coast fever with persistence of infection. *Brit. Vet. J.*, 1966, **122**, 361-370.
- BRUCE D.B., HARMETON A.E., BATERMAN H.R., MACKIE F.P. Amakebe: a disease of calves in Uganda. *Proc. R. Soc. Lond., B, Biol. Sci.*, 1910, **82**, 256-272.
- BURRIDGE M.J., KIMBER C.D. The Indirect Fluorescent Antibody Test for experimental East coast fever (*Theileria parva* infection of cattle). Evaluation of a Cell Culture Schizont Antigen. *Res. Vet. Sci.*, 1972, **13**, 451-455.
- DEEM S.L., PERRY B.D., KATENDE J.M., MC DERMONT J.J., MAHAN S.M., MALOO S.H., MORZARIA S.P., MOSOKE A.J., ROWLAND G.J. Variations in prevalence rates of tick-borne diseases in Zebu cattle by agroecological zone: implications for East Coast fever immunizations. *Prev. Vet. Med.*, 1993, **16**, 171-187.
- GACHOHI J.M., KITALA P.M., NGUMI P.N., SKILTON R.A. Environment and farm factors associated with exposure to *Theileria parva* infection in cattle under traditionnel mixed farming system in Mbeere District, Kenya. *Trop. Anim. Health Prod.*, 2011, **43**, 271-277.
- GITAU G.K., PERRY B.D., KATENDE J.M., MC DERMONT J.J., MORZARIA S.P., YOUNG A.S. The prevalence of serum antibodies to tick-borne infections in cattle in smallholder dairy farms in Murang'a District, Kenya; a cross-sectional study. *Prev. Vet. Med.*, 1997, **30**, 95-107.
- GITAU G.K., PERRY B.D., MC DERMONT J.J. The incidence, morbidity and mortality due to *Theileria parva* infections in smallholder dairy farms in Murang'a District, Kenya. *Prev. Vet. Med.*, 1999, **39**, 65-79.
- GITAU G.K., MC DERMONT J.J., KATENDE J.M., O'CALLAGHAN C.J., BROWN R., PERRY B.D. Differences in the epidemiology of theileriosis in contrasting agro-ecological and grazing strata of highland Kenya. *Epidemiol. Infect.*, 2000, **124**, 325-335.
- GODDEERIS B.M., MORRISON W.I. Techniques for the generation, cloning and characterization of bovine cytotoxic T cells specific for the protozoan *Theileria parva*. *J. Tissue Cult. Meth.*, 1988, **11**, 101-110.
- KALUME M.K., LOSSON B., VYAMBWERA C.G., MBEGUMBAYA L., MAKUMYAVIRI A.M., SAEGERMAN C. Enquête épidémiologique auprès des vétérinaires concernant trois maladies vectorielles des bovins élevés dans la Province du Nord-Kivu, République Démocratique du Congo. *Epidémiol. et santé anim.*, 2009, **56**, 197-216.
- KAPLAN E.L., MEIER P. Non-parametric estimation from incomplete observations. *J. Am. Stat. Ass.*, 1958, **53**, 457-458.
- KASAY K.L.L. Dynamisme Démographique et mise en valeur de l'espace en milieu équatorial d'altitude : Cas du Pays Nande au Kivu septentrional, Zaïre (PhD Thesis). Département de Géographie, Faculté des sciences, Université de Lubumbashi : République Démocratique du Congo, 1988, 404 p.
- KATUNGUKA-RWAKISHAYA E., RUBAIRE-AKIIKI C.M. Important parasitic diseases of livestock in Uganda. Fountain Publishers : Kampala, 2008, 143 p.
- LAWRENCE J.A., DE VOS A.J., IRVIN A.D. Zimbabwe theileriosis. In : Coetzer J.A.W., Thompson G.R., Tustin R.C. (Eds), *Infectious diseases of livestock with special reference to southern Africa*, Vol. 1. Oxford University Press : Cape Town, 1994, 326-328.
- MADDER M., SPEYBROECK N., BRANDT J., BERKVEN D. Diapause induction in adults of three *Rhipicephalus appendiculatus* stocks. *Exp. Appl. Acarol.*, 1999, **23**, 968-999.
- MADDER M., SPEYBROECK N., BRANDT J., TIRRY L., HODEK I., BERKVEN D. Geographic variation in diapause response of adult *Rhipicephalus appendiculatus* ticks. *Exp. Appl. Acarol.*, 2002, **27**, 209-221.
- MARARO S.B. Pouvoirs, élevage bovin et la question foncière au Nord-Kivu. In : Reyntjens F., Maryse S., *L'Afrique des Grands Lacs. Annuaire 2000-2001*. L'Harmattan : Paris, 2001, 1-31.
- MARCOTTY T. Optimisation et rationalisation de l'immunisation du bétail de la Zambie de l'Est contre *Theileria parva* (PhD Thesis). Université de Liège : Liège, 2003, 184 p.
- MEDLEY G.F., PERRY B.D., YOUNG A.S. Preliminary analysis of the transmission dynamics of *Theileria parva* in eastern Africa. *Parasitology*, 1993, **106**, 251-264.
- MOLL G., LOHDING A., YOUNG A.S., LEITCH B.L. Epidemiology of theileriosis in calves in an endemic area of Kenya. *Vet. Parasitol.*, 1986, **19**, 255-273.
- MOREL P.C. Maladies à tiques du bétail en Afrique. In : Chartier C., Itard J., Morel P.C., Troncy P.M. (Eds), *Précis de parasitologie vétérinaire tropicale*. Editions Médicales internationales : Paris, 2000, 452-761.

- MORZARIA S.P., NENE V., BISHOP R., MUSOKE A. Vaccines against *Theileria parva*. *Ann. NY. Acad. Sci.*, 2000, **916**, 464-473.
- MUGABI K.N., MUGISHA A., OCAIDO M. Socio-economic factors influencing the use of acaricides on livestock: a case study of the pastoralist communities of Nakasongola District, Central Uganda. *Trop. Anim. Health Prod.*, 2010, **42**, 131-136.
- MUHANGUZI D., MATOVU E., WAISWA C. Prevalence and Characterization of *Theileria* and *Babesia* Species in Cattle under Different Husbandry in Western Uganda. *Int. J. Anim. Vet. Adv.*, 2010, **2**, 51-58.
- NDUNGU S.G., NGUMI P.N., MBOGO S.K., DOLAN T.T., MUTUGI J.J., YOUNG A.S. Some preliminary observations on the susceptibility and resistance of different cattle breed to *Theileria parva* infection. *Onderstepoort J. Vet. Res.*, 2005, **72**, 7-11.
- NORVAL R.A.I., PERRY B.D., YOUNG A.S. The Epidemiology of Theileriosis in Africa, Academic Press : London, 1992, 481 p.
- OCHANDA H., YOUNG A.S., WELLS C., MEDLEY G.F., PERRY B.D. Comparison of the transmission of *Theileria parva* between different instars of *Rhipicephalus appendiculatus*. *Parasitology*, 1996, **113**, 243-253.
- OKUTHE O.S., BUYU G.E. Prevalence and incidence of tick-borne diseases in smallholder farming systems in the western-Kenya highlands. *Vet. Parasitol.*, 2006, **141**, 307-312.
- OURA C.A.L., ASIIMWE B.B., WEIR W., LUBEGA G.W., TAIT A. Population genetic analysis and sub-structuring of *Theileria parva* in Uganda. *Molec. Biochem. Parasitol.*, 2005, **140**, 229-239.
- PERRY B.D., DEEM S.L., MEDLY G.F., MORZARIA S.P., YOUNG A.S. The ecology of *Theileria parva* infections of cattle and the development of endemic stability. In : Munderloh U.G., Kurtti T.J., (Eds), Proceedings of the first International Conference on Tick-borne pathogens at the Host-vector interface: an agenda for research: Proceedings & abstracts. University of Minnesota College of Agriculture, Department of Entomology : Saint Paul, 1992, 1-7.
- PERRY B.D. Epidemiology indicators and their application to the control of tick-borne diseases. In: Tatchell R.J. (Ed.), Tick and Tick-Borne Disease Control. Food and Agriculture Organisation of the United Nations : Rome, 1996.
- PHIRI B.J., BENSCHOP J., FRENCH N.P. Systematic review of causes and factors associated with morbidity and mortality on smallholder dairy farms in Eastern and Southern Africa. *Prev. Vet. Med.*, 2010, **94**, 1-8.
- RUBAIRE-AKIIKI C.M., OKELLO-ONEN J., NASINYAMA G.W., VAARST M., KABAGAMBE E.K., MWAYI W., MUSUNGA D., WANDUKWA W. The prevalence of serum antibodies to tick-borne infections in Mbale District, Uganda: the effect of agro-ecological zone, grazing management and age of cattle. *J. Insect Sci.*, 2004, **4**, 8-16.
- RUBAIRE-AKIIKI C.M., OKELLO-ONEN J., MUSUNGA D., KABAGAMBE E.K., VAARST M., OKELLO D., OPOLOT C., BISAGAYA A., OKORI C., BISAGATI C., ONGYERA S. MWAYI M.T. Effect of agro-ecological zone and grazing system on incidence of East Coast Fever in Calves in Mbale and Sironko Districts of Eastern Uganda. *Prev. Vet. Med.*, 2006, **75**, 251-266.
- SWAI E.S., KARIMURIBO E.D., RUGAIMUKAMU E.A., KAMBARAGE D.M. Factors influencing the distribution of questing ticks and the prevalence estimation of *Theileria parva* infection in brown ticks, Tanga region, Tanzania. *J. Vector Ecol.*, 2006, **31**, 224-228.
- WALKER A.R., BOUATOUR A., CAMICAS J.L., ESTRADA-PEN˜A A., HORAK I.G., LATIF A.A., PEGRAM R.G., PRESTON P.M. Ticks of Domestic Animals in Africa: a Guide to identification of species, Editions Bioscience Reports : Edinburgh, 2003, 222 p.
- YOUNG A.S., DOLAN T.T. MORZARIA S.P., MWAKIMA F.N., NORVAL R.A.I., SCOTT J., SHERRIFF A., GETTINBY G. Factors influencing infections in *Rhipicephalus appendiculatus* ticks fed on cattle infected with *Theileria parva*. *Parasitology*, 1996, **113**, 255-266.